

# 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭免疫损伤机制研究进展

左静 范玉琛

山东大学齐鲁医院肝病科, 山东济南 250012

**摘要** 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)定义为在乙型肝炎病毒(HBV)引起的慢性肝病(包括肝硬化和非肝硬化)基础上,表现为肝功能急性失代偿合并肝脏或肝外器官衰竭的一组具有短期高病死率的临床综合征。该病以短期高病死率和显著的全身炎症反应为特征,其发病是一个动态变化的复杂过程,目前机制并不明确,“三重打击”是较为公认的学说,免疫损伤在其中发挥重要作用,本文将重点阐述 HBV-ACLF 患者免疫炎症损伤相关研究进展。

**关键词** 乙型肝炎;慢加急性肝衰竭;全身炎症反应;免疫损伤

**中图分类号** R512.6<sup>+2</sup> **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20240301

**Progress in immunologic injury mechanism of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure** ZUO Jing, FAN Yu-chen. Department of Hepatology, Qilu Hospital of Shandong University, Shandong Jinan 250012, China  
Corresponding author: FAN Yu-chen, E-mail: fanyuchen@sdu.edu.cn

**Abstract** Hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) is identified as a complicated syndrome with a high short-term mortality rate that develops in patients with HBV-related chronic liver disease regardless of the presence of cirrhosis. Meanwhile, HBV-ACLF is characterized by acute deterioration of liver function and hepatic and/or extrahepatic organ failure. This disease is associated with systemic inflammatory response, but the exact mechanism remains unclear. The hypothesis of "triple attack" is a relatively recognized theory for the development of HBV-ACLF, in which host immunity plays an important role. This review will focus on the current development of innate and adaptive immune responses in patients with HBV-ACLF.

**Key words** Hepatitis B virus; Acute-on-chronic liver failure; Systemic inflammatory response; Immunologic injury

因全球各地区慢性肝病的主要病因及诱因差异,慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)定义及诊断标准并未统一。亚太肝病学会、欧洲肝病学会-慢性肝衰竭联盟、北美终末期肝病研究联盟<sup>[1,2]</sup>等组织提出 ACLF 在各自所在区域获得一定认可,但由于其纳入人群病因存在差异,包括酒精性、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染等,因此各类标准并非适用所有人群及国家。亚太地区的慢性肝病病因以 HBV 感染为主,HBV 再激活是病情加重的主要诱因<sup>[3]</sup>。2018 年中国重型乙型肝炎研究小组(Chinese Group on the Study of Severe Hepatitis B-ACLF, COSSH-ACLF)首次提出乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(hepatitis B virus-related ACLF, HBV-ACLF)的诊断标准<sup>[3]</sup>,即在 HBV 感染引起的慢性肝病(包括肝硬化和非肝硬化)基础上,出现肝

功能急性失代偿合并肝脏或肝外器官衰竭的一组具有短期高病死率的临床综合征。

HBV 感染所致肝脏损伤以免疫损伤为主。适应性免疫在机体清除 HBV 的过程中发挥主要作用,HBV 特异性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞耗竭<sup>[4]</sup>和 T 细胞功能明显受损导致了 HBV 感染的慢性化。HBV-ACLF 发生发展是一个动态变化的复杂过程,不同病程阶段机体免疫及代谢状态存在差异,机制尚不明确,存在不同的假说。“三重打击学说”较为公认,HBV 通过免疫损伤反应导致肝细胞死亡,并介导了局部炎症反应,而引起后续系统性炎症反应(systematic inflammatory response syndrome, SIRS)和代偿性抗炎反应(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS)<sup>[5,6]</sup>等;炎症反应致组织器官灌注不足和微循环障碍,造成机体缺血、缺氧损伤;ACLF 患者肝脏解毒能力显著降低、对细菌易感性增加,内

毒素血症进一步加重肝细胞损伤,形成恶性循环。除上述“打击”因素外,能量生成和分配异常是HBV-ACLF患者发病的另一重要“打击”。综上,促炎与抗炎失衡、免疫炎性损伤在HBV-ACLF病情进展中发挥重要作用,相关免疫细胞、细胞因子及作用通路繁多,仍为目前研究的热点及难点。现本文就固有免疫及适应性免疫在HBV-ACLF发生发展中的作用和机制进行综述。

## 一、HBV-ACLF的固有免疫机制

1. DAMPs和PAMPs及其相关分子启动炎症反应:在HBV-ACLF发病过程中,HBV、肠道屏障功能受损使肠道致病菌易位<sup>[7,8]</sup>及患者细菌易感性增加等原因所致的机体病原微生物释放病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),与特定模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)结合后,启动炎症反应,造成肝实质与非实质等细胞死亡、组织损伤,进一步释放组蛋白、热休克蛋白、线粒体DNA、高迁移率族蛋白(high mobility group box1, HMGB1)等损伤相关模式分子(damage-associated Molecular Patterns, DAMPs),导致大量促炎细胞因子,如白介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6和IL-8等的生成,形成细胞因子风暴及SIRS<sup>[9,10]</sup>。HMGB1是一种促炎因子,Hu等<sup>[11]</sup>发现HMGB1在重症肝炎及HBV-ACLF血清中水平升高,提示其可作为HBV-ACLF诊断相关指标或治疗靶点。病程早期,机体以促炎反应为主,随着病情进展机体出现CARS、混合性拮抗反应综合征(mixed antagonist response syndrome, MARS),机体以抑炎反应为主,出现免疫麻痹,增加感染风险,加重组织损伤,最终造成器官衰竭。

2. 单核细胞:HBV-ACLF患者单核细胞计数异常、功能存在障碍,其功能、活化状态受人类白细胞DR抗原(human leukocyte antigen DR, HLA-DR)、前列腺素E受体2(prostaglandin E receptor 2, EP2)、可溶性CD100(soluble CD100, sCD100)水平和膜结合性CD100(membrane-bound CD100, mCD100)等因子调控<sup>[12~14]</sup>。HBV-ACLF患者HLA-DR表达降低导致单核细胞、巨噬细胞(macrophage, m $\phi$ )的抗原呈递能力受损<sup>[12]</sup>,同时HLA-DR的降低与疾病的不良预后相关<sup>[13]</sup>。C-X-C基序趋化因子配体10(C-X-C motif chemokine Ligand 10, CXCL10)为促炎细胞因子,C-X-C基序趋化因子受体3(C-X-C motif chemokine receptor 3, CXCR3)为其受体,CXCR3<sup>+</sup>单核细胞在HBV-ACLF及CHB患者中显著高于健康对照(healthy control, HC)组<sup>[14]</sup>。阻断EP2可促进HBV-

ACLF患者外周血单核细胞分泌活性氧自由基,但其吞噬功能受损,对病原微生物攻击的免疫反应降低<sup>[14]</sup>。Zhang等<sup>[15]</sup>认为严重的炎症反应诱导sCD100/mCD100失衡,使CD14单核细胞反应失活,可能有利于HBV-ACLF患者的生存。单核细胞可通过上调MER酪氨酸激酶(Mer tyrosine kinase, MERTK),进而激活细胞因子信号转导抑制剂、阻断Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)激活和减少促炎细胞因子的产生来抑制炎症<sup>[16]</sup>。一项分析了347例HBV-ACLF患者的研究发现,单核细胞与淋巴细胞比值(monocyte-to-lymphocyte ratio, MLR)升高与90d死亡率显著相关,提示MLR可能作为HBV-ACLF疾病严重程度的预后判断指标<sup>[17]</sup>。

3. 巨噬细胞:肝脏中的m $\phi$ 又称为库普弗(Kupffer)细胞,具有多样性和可塑性,主要来源于外周血中的单核细胞。m $\phi$ 主要分为M1、M2两种功能相反的表型。M1具有促炎特征,分泌趋化因子,募集中性粒细胞及单核细胞等,单核细胞又可进一步分化为m $\phi$ ,促进机体向SIRS发展;M2具有抑炎特征,在组织修复、伤口愈合中发挥重要作用<sup>[18]</sup>,与机体CARS、MARS密切相关。在HBV相关肝病进展过程中,离子胞内通道3(chloride intracellular channel-3, CLIC3)通过核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)调控m $\phi$ 极化为M2,升高的M2比例与HBV-ACLF不良预后相关<sup>[19]</sup>。而有研究后期发现,相较于健康人和CHB患者,HBV-ACLF患者中M1表型比例,提示M1激活的CD86、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)显著升高,且与CHB患者相比变化更显著,促炎因子IL-1 $\beta$ 、IL-6和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平显著高于健康人,而抑炎因子IL-10水平显著降低,提示在HBV-ACLF患者中,m $\phi$ 可能更倾向于分化促炎表型,导致炎症反应的加剧<sup>[20]</sup>。上述2项研究结论存在差异,可能由于纳入HBV-ACLF患者所处免疫状态不同,早期M1比例升高提示肝脏细胞严重的免疫损伤,晚期M2比例升高,提示机体免疫麻痹状态,此时由于机体对病原微生物的易感性及抵抗力下降,死亡率随之上升。2组HBV-ACLF患者分别接受粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)与标准治疗,相较于标准治疗组,G-CSF治疗组180d生存率显著升高,M1促炎表型显著降低,M2抑炎表型显著升高,提示G-CSF可促进m $\phi$ 分化为M2,且单核细胞分泌促炎因子能力显著降低,表明G-CSF可能成为HBV-ACLF患者

有效的治疗措施,值得进一步研究<sup>[21]</sup>。

4. 树突状细胞:树突状细胞(dendritic cells, DC)在粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子刺激下,可分化为髓样DC(myeloid DC, mDC),还有来源于淋巴样干细胞的浆细胞样DC(plasmacytoid DC, pDC)。Zhang等<sup>[22]</sup>研究发现,ACLF患者中DC细胞可从血迁移至肝脏,抑制CD8<sup>+</sup>T细胞分泌干扰素 $\gamma$ (interferon gamma, IFN- $\gamma$ ),进而减轻肝脏损伤<sup>[23]</sup>。m $\phi$ 和DC分泌的IL-23<sup>[24]</sup>,可促进辅助T17细胞、IL-17及其他促炎因子的生成<sup>[24]</sup>,Bao等<sup>[25]</sup>发现HBV-ACLF患者的血清和单核细胞来源的DC(monocyte-derived DC, MoDC)中IL-23显著升高,与生存组HBV-ACLF患者比较,非生存组IL-23显著升高,且治疗前MoDC中高IL-23水平与HBV-ACLF患者死亡率增加相关。DC细胞表面有许多高度分化细胞表面标志物,如HLA-DR、CD86和CD54,在T淋巴细胞的树突状激活过程中发挥重要作用。Wu等<sup>[26]</sup>提示与CHB患者或健康者比较,ACLF患者上述表面标志物的表达显著降低且DC在刺激T细胞增殖和生成INF- $\gamma$ 的功能方面表现出明显的损伤。

5. 自然杀伤细胞:自然杀伤(natural killer, NK)细胞来源于骨髓,无MHC限制,是固有免疫一类重要细胞。NK细胞分为CD56<sup>dim</sup>和CD56<sup>bright</sup>两个亚群;CD56<sup>dim</sup>占NK细胞90%以上,发挥细胞毒作用,具有更强的杀伤活性。NK细胞可释放穿孔素与颗粒酶致细胞死亡,其杀伤活性也与Fas/Fas配体、TNF- $\alpha$ /TNFR-I、TNF相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)/TRAILR和NKG2D/NKG2D配体有关<sup>[27]</sup>,在HBV-ACLF患者中NK细胞数量及功能发生异常<sup>[28]</sup>。Li等<sup>[29]</sup>研究发现,HBV-ACLF患者外周血NK细胞亚群显著减少,CXCL10可促进NK细胞亚群凋亡,NK细胞减少与HBV DNA水平和疾病严重程度相关。自然杀伤样B细胞(natural killer-like B, NKB)是从NK细胞和B细胞中分离出来的,NKB的升高可能是HBV-ACLF患者预后不良的重要指标<sup>[30]</sup>。

6. 中性粒细胞:有研究证实,中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)<sup>[31-34]</sup>及NLR结合CD200受体(CD200R)<sup>[35]</sup>等其他指标可作为HBV-ACLF患者预后标志物。Wu等<sup>[36]</sup>报告HBV-ACLF患者循环中性粒细胞绝对计数显著增加,吞噬能力明显受损,但形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)的能力增加。另一项研究发现,受损肝细胞

释放HMGB1等DAMPs,可被中性粒细胞上的TLRs识别,促进NETs生成,加重肝细胞损伤及上调Kupffer细胞分泌的促炎细胞因子<sup>[37]</sup>。Zhang等<sup>[38]</sup>研究的9例ACLF患者中,8例患者病因HBV感染,结果中性粒细胞上的TLR在肝硬化与ACLF患者中表达存在差异,ACLF患者TLR3表达下降。中性粒细胞可受趋化因子CXCL1调控,CXCL1可与其表面的CXCR2结合,募集中性粒细胞,增加活性氧(reactive oxygen species, ROS)分泌、上调caspase3相关凋亡通路,导致肝细胞损伤,在ACLF患者血清及肝脏组织中均发现CXCL1显著升高,而在小鼠中也有类似现象,并且敲除CXCL1可逆转中性粒细胞造成的肝损伤<sup>[39]</sup>,较HC及CHB组,HBV-ACLF患者中性粒细胞表面的CXCR1/2低表达,与IL-8生成增加相关<sup>[40]</sup>,为ACLF治疗方案提供了研究基础。

7. 髓源性抑制细胞:髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是骨髓来源的一群异质性细胞,具有免疫负调控作用,可能通过调控CD3 $\zeta$ 链抑制T细胞的功能<sup>[41]</sup>。当机体受到炎症、肿瘤等刺激时,未熟髓系细胞正常分化受阻,被诱导分化为MDSCs<sup>[42]</sup>,在人体中又主要分为粒细胞样MDSCs(granulocytic-MDSCs, G-MDSCs)、单核细胞样MDSCs(monocytic-MDSCs, M-MDSCs)2种表型,还有一小部分具有MDSCs特征的髓系前体细胞,被称为“early MDSCs”<sup>[43]</sup>。Yu等<sup>[44]</sup>研究发现HBV-ACLF患者肝脏和血液的G-MDSCs比例均显著升高,高水平的MDSCs与HBV-ACLF患者相对较差的短期预后相关<sup>[41]</sup>,G-MDSCs通过吡啶胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO)信号通路抑制T细胞增殖和IFN- $\gamma$ 的产生,HBV-ACLF患者G-MDSCs吞噬细菌的能力低下<sup>[44]</sup>,增加了患者的易感性。HBV-ACLF患者M-MDSCs扩增并表现出免疫抑制特性,显著降低T细胞增殖,TLR3激动剂可逆转<sup>[45]</sup>。

## 二、HBV-ACLF的适应性免疫机制

1. CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞:CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞又称为辅助性T(helper T, Th)细胞,包括Th1、Th2、Th17、Th22、滤泡性辅助性T(follicular helper T, Tfh)细胞和调节性T(regulatory T, Treg)细胞等细胞亚群。

Th17细胞受IL-6等细胞因子调控,通过分泌IL-17A、IL-17F、IL-23、TNF- $\alpha$ 等炎症因子发挥促炎作用<sup>[46]</sup>。Zhang等<sup>[47]</sup>发现HBV-ACLF患者外周血和肝脏中Th17细胞数量显著增加、Th17细胞比例与肝组织的损伤程度明显相关;此外,研究提示V

型免疫球蛋白结构域抑制 T 细胞活化抑制因子(V-type immunoglobulin domain-containing suppressor of T-cell activation, VISTA)表达降低可能促进 Th17 细胞发育<sup>[48]</sup>。体外实验发现,IL-17 可以激活 mDC 和单核细胞,增强其分泌 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  及 IL-23 等促炎细胞因子。

Treg 细胞通常分泌转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 及 IL-10 负调控免疫应答。Tan 等<sup>[46]</sup>发现随着 HBV-ACLF 病情进展,Treg 与 Th17 呈正相关,均逐渐增加<sup>[49]</sup>,且 Treg 可能存在从外周到肝脏再分布<sup>[50]</sup>,但 Treg/Th17 逐渐降低,提示抗炎、促炎失调,免疫失衡,进一步加重炎症损伤。

Th22 细胞以主要分泌 IL-22 为特征。体外研究表明,IL-22 可通过 Th17 细胞和 m $\phi$  细胞促进 HBV 感染者炎症反应,并诱导肝细胞产生促炎介质和急性期蛋白<sup>[51]</sup>。Th22 细胞及其相关细胞因子可能在 HBV 感染过程中发挥肝脏保护作用<sup>[52]</sup>,但其在 HBV-ACLF 发病过程中的研究较少。Mo 等<sup>[53]</sup>发现 HBV-ACLF 患者外周血 Th22 细胞数量增加、血浆 IL-22 水平增高、肝内 IL-22<sup>+</sup> 细胞增多,循环中 IL-22 升高与 HBV-ACLF 患者疾病严重程度相关及不良预后明显相关,值得进一步探索。

循环中的 Tfh 细胞在 HBV-ACLF 患者中比例显著高于 HC 组及中度、严重 CHB 组。HC 组患者的初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞在 HBV-ACLF 患者组血清刺激后可分化为 Tfh 细胞,这一过程可被 IL-12/21 中和性抗体逆转,提示 Tfh 细胞可以作为 HBV-ACLF 患者潜在的治疗靶点<sup>[54]</sup>。

Yu 等<sup>[55]</sup>研究提示 HBV-ACLF 患者血液和肝脏的 B/T 淋巴细胞衰减因子(B- and T-lymphocyte attenuator, BTLA)显著升高,与疾病严重程度、预后呈正相关。BTLA 通过抑制 CD4<sup>+</sup> T 细胞的活化、增殖和分泌细胞因子的产生或通过促进 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的凋亡 2 种途径,从而诱导 CD4<sup>+</sup> T 的耗竭<sup>[54]</sup>。调节 BTLA 的表达或功能可能成为治疗 HBV-ACLF 的潜在策略之一。

2. CD8<sup>+</sup> T 细胞:据以往研究,CD8<sup>+</sup> T 细胞在 ACLF 患者外周血中数量减少且为低活化状态<sup>[56]</sup>,通过细胞表面 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)识别抗原。一项 5 例 HBV-ACLF 患者参与的研究示 TCR 库在 HBV-ACLF 病程中动态变化,出现多样性下降<sup>[57]</sup>。Li 等<sup>[58]</sup>研究发现 CD8<sup>+</sup> T 细胞计数的减少可能与 HBV-ACLF 患者的生存率低相关。程序

性细胞死亡蛋白 1 (Programmed death-1, PD-1) 主要在活化 T 细胞表达,配体为 PD-L1、PD-L2,在 T 淋巴细胞活化、增殖和细胞因子分泌中起重要的负调控作用<sup>[59]</sup>。Yao 等<sup>[60]</sup>通过单细胞测序发现较 HC 组,HBV-ACLF 组耗竭 CD8<sup>+</sup> T 细胞(exhausted CD8<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup> LAG-3<sup>+</sup> T 细胞)显著升高,且 IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等细胞因子分泌能力显著下降,与该病后期免疫抑制为主状态相符。

在 HBV-ACLF 患者中,CD8<sup>+</sup> 的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)被认为是导致肝细胞损伤的主要效应 T 淋巴细胞,可直接杀伤靶细胞;或通过 Fas-FasL 途径或 TNF-TNF 受体(TNF receptor, TNFR)途径诱导靶细胞凋亡。在 ACLF 病程早期,PD-1 的表达水平显著降低,减轻了对 CTL 免疫活性的负调控,加重肝损伤<sup>[61,62]</sup>。免疫调节因子在 HBV-ACLF 的发病机制中具有重要作用,进一步研究这些因子的作用机制有助于深入理解该疾病的病理生理过程,并为开发新的治疗策略提供理论支持。

3. 黏膜相关不变 T 细胞:黏膜相关不变 T 细胞(mucosal-associated invariant T, MAIT)是一种进化保守的 T 细胞亚群,通过 TCR 对大多数细菌发生反应。在人外周血中,MAIT 细胞可分为 CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup>, CD4<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup> 和 CD8<sup>-</sup> CD4<sup>-</sup> (double-negative, DN) 4 个细胞亚群,其中以 CD4<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup> MAIT 细胞亚群为主,在感染性疾病中具有保护作用并可通过分泌 IL-13、IL-5 等促进组织修复。Xue 等<sup>[63]</sup>实验验证 HBV-ACLF 患者外周血 MAIT 细胞比例较 CHB 患者和 HC 组显著降低,HBV-ACLF 存活组患者 MAIT 细胞比例较死亡组患者明显增高,提示 MAIT 可以作为 HBV-ACLF 预后标志物。

HBV-ACLF 患者外周血单核细胞中 T 细胞表面的 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 表达显著增加,与反映病情严重程度的总胆红素、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)等指标成正相关;体外实验,使用 TLR4 配体刺激 HBV-ACLF 患者外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)后诱导机体 CD4<sup>+</sup> T 细胞产生大量 TNF- $\alpha$ ,进而导致肝损伤<sup>[64]</sup>。

4. B 淋巴细胞:在 HBV-ACLF 发病的适应性免疫机制中以 T 淋巴细胞反应为主,目前研究也主要集中在 T 细胞反应,而 B 细胞反应在 HBV-ACLF 发病中的作用研究尚不明确。

Farci 等<sup>[65,66]</sup>先后通过对患有乙型肝炎相关急

性肝衰竭(hepatitis B virus-related acute liver failure, HBV-ALF)的2例人类,4例人类及2例黑猩猩肝组织进行研究发现,HBV-ALF患者肝组织中存在明显的B细胞反应,非T细胞依赖的B细胞产生靶向肝细胞表面的乙肝核心抗原(hepatitis B core antibody, HBcAg)的高亲和力的免疫球蛋白M和免疫球蛋白G抗体,形成大量抗原抗体复合物、激活补体,致肝细胞严重损伤,最终进展至肝衰竭,上述现象由具有异常B细胞反应的宿主遇到HBcAg高度突变的HBV感染后引起。该结果表明B细胞可能在重症肝病中发挥重要作用,为后续B细胞在HBV-ACLF中的动态变化及作用机制提供前期研究基础。

Yan等<sup>[67]</sup>使用下一代测序(next generation sequencing, NGS)检测HBV-ACLF患者及对照组PBMCs中B细胞受体(B-cell receptor, BCR)互补决定区3(CDR3)基因片段的多态性,结果表明BCR CDR3变量(V)、多样性(D)和连接(J)和V-J基因片段的分布在ACLF组和对照组之间存在显著差异,提示B细胞反应可能在HBV-ACLF发病过程中起到一定作用。Zhao等<sup>[68]</sup>通过对以HBV感染为主要病因的ACLF患者的肝组织及外周血分析,定义B细胞亚群,发现ACLF患者肝内B细胞群表现出独特的特征,幼稚B细胞的比例最低,CD27CD21非典型记忆B细胞(CD27CD21 atypical memory B cells, atMBC)比例最高,CD27CD38浆细胞的百分比升高;相关细胞亚群与肝酶等部分反映疾病严重程度指标呈正相关。提示在ACLF进展过程中,B细胞存在特异性变化、并与疾病严重程度相关,但仍需继续探索B细胞在HBV-ACLF发病中的具体作用机制,寻找潜在有效治疗靶点。

### 三、总结与展望

HBV-ACLF患者病情危重,短期病死率极高,内科综合治疗疗效欠佳,肝移植为最终治疗方案,并无有效的治疗药物,亟待寻找更加有效的治疗措施。HBV-ACLF发病是一个动态变化的复杂过程,具体机制及病程分期机体不同的免疫及代谢状态仍为目前研究的要点,其发病机制至今尚未完全阐明。ACLF病程早期,机体以炎症因子风暴、过度免疫反应为主,应给予患者适当免疫抑制治疗;病程晚期,机体以免疫麻痹为主,感染风险增加,须重视增强免疫力治疗。目前研究存在以下几点局限性:①HBV-ACLF患者诊断、入组标准存在差异,各研究结果适用人群有限;②HBV-ACLF患者的外周血及肝脏免疫细胞数量和功能并非完全一致,外周血中免疫细

胞无法真实反映肝组织中免疫细胞实际变化趋势;③多数研究集中在固有免疫及适应性免疫中的T细胞领域,B细胞的作用机制仍未阐明;④针对患者的腹水、尿液中相关免疫细胞、细胞因子或菌群变化在该病发病中研究较少,其作用和机制有待阐明;⑤HBV-ACLF小鼠模型的缺乏,限制了免疫学研究进展;⑥虽然部分免疫细胞及细胞因子的作用和机制被逐渐阐明,但是其临床应用尚未明确。后续研究可综合上述指标构建更为完善的诊断或临床预测模型,协助临床诊疗;更应争取动态监测HBV-ACLF患者病情变化、临床检验指标、各分期免疫状态,以期完善各病程阶段的免疫特征,寻找不同分期“时间节点”及潜在干预靶点,制定针对特定免疫细胞或通路的靶向治疗及其他个体化的免疫治疗方案,为早期诊断、提高生存质量、延长ACLF生存时间提供更多理论依据。

### 参考文献

- 1 项晓刚,尚大宝,张金铭.慢加急性肝衰竭的疾病定义及发病机制[J].临床肝胆病杂志,2023,39(10):2281-2287.
- 2 Bajaj JS, O'Leary JG, Lai JC, et al. Acute-on-Chronic liver failure clinical guidelines [J]. *Am J Gastroenterol*, 2022, 117(2):225-252.
- 3 Wu T, Li J, Shao L, et al. Development of diagnostic criteria and a prognostic score for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Gut*, 2018, 67(12):2181-2191.
- 4 Allahmoradi E, Mohammadi R, Kheirandish Zarandi P, et al. The CD8 + T cell exhaustion mechanisms in chronic hepatitis B infection and immunotherapeutic strategies: a systematic review [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2023, 19(6):671-688.
- 5 Qiang R, Liu XZ, Xu JC. The immune pathogenesis of acute-on-chronic liver failure and the danger hypothesis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:935160.
- 6 Arroyo V, Angeli P, Moreau R, et al. The systemic inflammation hypothesis: towards a new paradigm of acute decompensation and multiorgan failure in cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(3):670-685.
- 7 Yao X, Yu H, Fan G, et al. Impact of the gut microbiome on the progression of hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:573923.
- 8 Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(3):558-577.
- 9 Zaccherini G, Weiss E, Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: definitions pathophysiology and principles of treatment [J]. *JHEP Rep*, 2020, 3(1):100176.
- 10 Sarin SK, Choudhury A. Acute-on-chronic liver failure: terminology, mechanisms and management [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(3):131-149.
- 11 Hu YB, Hu DP, Fu RQ. Correlation between high mobility group box-1 protein and chronic hepatitis B infection with severe hepatitis B and

- acute-on-chronic liver failure: a meta-analysis [J]. *Minerva Med*, 2017, 108(3):268-276.
- 12 Kou K, Sun X, Tian G, et al. The mechanisms of systemic inflammatory and immunosuppressive acute-on-chronic liver failure and application prospect of single-cell sequencing [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022:5091275.
  - 13 Xing T, Li L, Cao H, et al. Altered immune function of monocytes in different stages of patients with acute on chronic liver failure [J]. *Clin Exp Immunol*, 2007, 147(1):184-188.
  - 14 Wang Y, Chen C, Qi J, et al. Altered PGE2-EP2 is associated with an excessive immune response in HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1):93.
  - 15 Zhang DN, Liu Y, Li X, et al. Imbalance between soluble and membrane-bound CD100 regulates monocytes activity in hepatitis B virus-associated acute-on-chronic liver failure [J]. *Viral Immunol*, 2021, 34(4):273-283.
  - 16 Bernsmeier C, Pop OT, Singanayagam A, et al. Patients with acute-on-chronic liver failure have increased numbers of regulatory immune cells expressing the receptor tyrosine kinase MERTK [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(3):603-615.
  - 17 Wang N, He S, Zheng Y, et al. The value of NLR versus MLR in the short-term prognostic assessment of HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121:110489.
  - 18 Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis [J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5):1090-1096.
  - 19 Liang J, Long Z, Zhang Y, et al. Chloride intercellular channel 3 suppression-mediated macrophage polarization: a potential indicator of poor prognosis of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Immunol Cell Biol*, 2022, 100(5):323-337.
  - 20 Tan N, Jian G, Peng J, et al. Chishao - Fuzi herbal pair restore the macrophage M1/M2 balance in acute-on-chronic liver failure [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 328:118010.
  - 21 Tong J, Wang H, Xu X, et al. Granulocyte colony-stimulating factor accelerates the recovery of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure by promoting M2-like transition of monocytes [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:885829.
  - 22 Zhang Z, Zou ZS, Fu JL, et al. Severe dendritic cell perturbation is actively involved in the pathogenesis of acute-on-chronic hepatitis B liver failure [J]. *J Hepatol*, 2008, 49(3):396-406.
  - 23 Zhao L, Yang X. Cross talk between natural killer T and dendritic cells and its impact on T cell responses in infections [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:837767.
  - 24 Lyakh L, Trinchieri G, Provezza L, et al. Regulation of interleukin-12/interleukin-23 production and the T-helper 17 response in humans [J]. *Immunol Rev*, 2008, 226:112-131.
  - 25 Bao S, Zheng J, Li N, et al. Role of interleukin-23 in monocyte-derived dendritic cells of HBV-related acute-on-chronic liver failure and its correlation with the severity of liver damage [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2017, 41(2):147-155.
  - 26 Wu Z, Shi H, Zhang L, et al. Comparative analysis of monocyte-derived dendritic cell phenotype and T cell stimulatory function in patients with acute-on-chronic liver failure with different clinical parameters [J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1290445.
  - 27 Zou Y, Chen T, Han M, et al. Increased killing of liver NK cells by Fas/Fas ligand and NKG2D/NKG2D ligand contributes to hepatocyte necrosis in virus-induced liver failure [J]. *J Immunol*, 2010, 184(1):466-475.
  - 28 Liu F, Duan X, Wan Z, et al. Lower number and decreased function of natural killer cells in hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2016, 40(5):605-613.
  - 29 Li HJ, Yang N, Mu X, et al. Reduction of natural killer cells is associated with poor outcomes in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Hepatol Int*, 2022, 16(6):1398-1411.
  - 30 Liu Y, Meng X, Wang C, et al. Interleukin-18 plays a positive feedback activity to natural killer-like B cells in hepatitis B virus-associated acute-on-chronic liver failure [J]. *Viral Immuno*, 2022, 35(1):50-59.
  - 31 Khanam A, Trehanpati N, Riese P, et al. Blockade of neutrophil's chemokine receptors CXCR1/2 abrogate liver damage in acute-on-chronic liver failure [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:464.
  - 32 Sun J, Guo H, Yu X, et al. A neutrophil-to-lymphocyte ratio-based prognostic model to predict mortality in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *BMC Gastroenterol*, 2021, 21(1):422.
  - 33 Gao F, Zhang Q, Liu Y, et al. Nomogram prediction of individual prognosis of patients with acute-on-chronic hepatitis B liver failure [J]. *Dig Liver Dis*, 2019, 51(3):425-433.
  - 34 张旭, 马丽娜, 王梦甜. 中性粒/淋巴细胞比值联合预后营养指数对乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭短期预后的预测价值[J]. *中华肝脏病杂志*, 2023, 31(8):847-854.
  - 35 Li Y, Kong Y, Shi K, et al. CD200R combined neutrophil-lymphocyte ratio predict 90-day mortality in HBV-related acute-On-Chronic liver failure [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:762296.
  - 36 Wu W, Sun S, Wang Y, et al. Circulating neutrophil dysfunction in HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:620365.
  - 37 Huang H, Tohme S, Al-Khafaji AB, et al. Damage-associated molecular pattern-activated neutrophil extracellular trap exacerbates sterile inflammatory liver injury [J]. *Hepatology*, 2015, 62(2):600-614.
  - 38 Zhang Y, Wu W, Wang Y, et al. Gene profiling of Toll-like receptor signalling pathways in neutrophils of patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):465.
  - 39 Tang S, Zhang J, Zhang L, et al. Knockdown of CXCL1 improves ACLF by reducing neutrophil recruitment to attenuate ROS production and hepatocyte apoptosis [J]. *Hepatol Commun*, 2023, 7(10):e0257.
  - 40 Xu R, Bao C, Huang H, et al. Low expression of CXCR1/2 on neutrophils predicts poor survival in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:38714.
  - 41 Zeng Y, Li Y, Xu Z, et al. Myeloid-derived suppressor cells expansion is closely associated with disease severity and progression in HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *J Med Virol*, 2019, 91(8):1510-1518.

- 42 Condamine T, Kumar V, Ramachandran IR, et al. ER stress regulates myeloid-derived suppressor cell fate through TRAIL-R-mediated apoptosis [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6):2626-2639.
- 43 Veglia F, Sanseviero E, Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(8):485-498.
- 44 Yu X, Sun J, Yang F, et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells increase infection risk via the IDO/IL-10 pathway in patients with hepatitis B virus-related liver failure [J]. *Front Immunol*, 2023, 13:966514.
- 45 Bernsmeier C, Triantafyllou E, Brenig R, et al. CD14 + CD15- HLA-DR- myeloid-derived suppressor cells impair antimicrobial responses in patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *Gut*, 2018, 67(6):1155-1167.
- 46 Tan NH, Chen B, Peng J, et al. Treg/Th17 Cell balance in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure at different disease stages [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021:9140602.
- 47 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, et al. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B [J]. *Hepatology*, 2010, 51(1):81-91.
- 48 Zhang Y, Zhang X, Han J, et al. Downregulated VISTA enhances Th17 differentiation and aggravates inflammation in patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *Hepato Int*, 2023, 17(4):1000-1015.
- 49 Yang J, Yi P, Wei L, et al. Phenotypes and clinical significance of circulating CD4(+)CD25(+) regulatory T cells (Tregs) in patients with acute-on-chronic liver failure (ACLF) [J]. *J Transl Med*, 2012, 10:193.
- 50 Shen C, Yan WZ, Zhao CY, et al. Increased CD4 + CD25 + regulatory T cells correlate with poor short-term outcomes in hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure patients [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 48(2):137-146.
- 51 Zhao J, Zhang Z, Luan Y, et al. Pathological functions of interleukin-22 in chronic liver inflammation and fibrosis with hepatitis B virus infection by promoting T helper 17 cell recruitment [J]. *Hepatology*, 2014, 59:1331-1342.
- 52 Xiang X, Gui H, King NJ, et al. IL-22 and non-ELR-CXC chemokine expression in chronic hepatitis B virus-infected liver [J]. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90(6):611-619.
- 53 Mo R, Wang P, Lai R, et al. Persistently elevated circulating Th22 reversely correlates with prognosis in HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32(3):677-686.
- 54 Du B, Teng J, Yin R, et al. Increased circulating T follicular helper cells induced via IL-12/21 in patients with acute on chronic hepatitis B liver failure [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:641362.
- 55 Yu X, Yang F, Shen Z, et al. BTLA contributes to acute-on-chronic liver failure infection and mortality through CD4 + T-cell exhaustion [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):1835.
- 56 Ye Y, Liu J, Lai Q, et al. Decreases in activated CD8 + T cells in patients with severe hepatitis B are related to outcomes [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(1):136-145.
- 57 Shen G, Sun S, Huang J, et al. Dynamic changes of T cell receptor repertoires in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure [J]. *Hepato Int*, 2020, 14(1):47-56.
- 58 Li J, Hu CH, Chen Y, et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subsets in patients with acute-on-chronic liver failure associated with hepatitis B [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:689865.
- 59 Kuol N, Stojanovska L, Nurgali K, et al. PD-1/PD-L1 in disease [J]. *Immunotherapy*, 2018, 10(2):149-160.
- 60 Yao J, Ji Y, Liu T, et al. Single-Cell RNA sequencing shows T-cell exhaustion landscape in the peripheral blood of patients with hepatitis B virus-associated acute-on-chronic liver failure [J]. *Gut Liver*, 2023. [online ahead of print].
- 61 Zhou X, Li Y, Ji Y, et al. PD-1 involvement in peripheral blood CD8 + T lymphocyte dysfunction in patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2021, 9(3):283-290.
- 62 刘晓燕, 石峰, 赵鸿. PD-1受体在HBV-ACLF患者外周血CD8 + T细胞上的表达研究[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2010, 24(2):125-127.
- 63 Xue H, Li H, Ju LL, et al. Mucosal-associated invariant T cells in hepatitis B virus-related liver failure [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(31):4703-4717.
- 64 Xu CL, Hao YH, Lu YP, et al. Upregulation of toll-like receptor 4 on T cells in PBMCs is associated with disease aggravation of HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2015, 35(6):910-915.
- 65 Farci P, Diaz G, Chen Z, et al. B cell gene signature with massive intrahepatic production of antibodies to hepatitis B core antigen in hepatitis B virus-associated acute liver failure [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(19):8766-8771.
- 66 Chen Z, Diaz G, Pollicino T, et al. Role of humoral immunity against hepatitis B virus core antigen in the pathogenesis of acute liver failure [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(48):E11369-E11378.
- 67 Yan Q, Wang L, Lai L, et al. Next generation sequencing reveals novel alterations in B-cell heavy chain receptor repertoires associated with acute-on-chronic liver failure [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1):243-255.
- 68 Zhao Y, He W, Wang C, et al. Characterization of intrahepatic B cells in acute-on-chronic liver failure [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1041176.